

Új enzimes stratégiák laktám és aminosav enantiomerek szintézisére*

FORRÓ ENIKŐ

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerkémiai Intézet, 6720 Szeged, Eötvös utca 6.

Levelezési cím: Forro.Eniko@pharm.u-szeged.hu

Summary

Forró, E.: New enzymatic strategies for enantiopure lactams and amino acids

To fulfil the requirements of modern go-ahead research, new direct and indirect enzymatic strategies and new techniques have been devised for the preparation of enantiopure β - and γ -lactams and β - and γ -amino acids, and some of them have been scaled up. For example, a formal total synthesis of enantiopure Anatoxin-a, a neurotoxic alkaloid, but a potent and stereospecific agonist at nicotinic acetylcholine receptors has been introduced. An efficient and very simple method has been developed for the synthesis of the antibacterial cispentacin [(1R,2S)-2-amino-1-cyclopentanecarboxylic acid] and 8 new derivatives. A highly efficient enzymatic procedure has been elaborated for the synthesis of the blockbuster drug Abacavir and Carbovir intermediate (1S,4R)-4-aminocyclopent-2-ene-1-carboxylic acid. The first enzymatic method has been devised for the synthesis of (R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butanoic acid, the intermediate for the new antidiabetic drug Sitagliptine. Direct enzymatic strategies have been reported for the synthesis of (2R,3S)-3-phenylisoserine, a key intermediate of the side-chain of the antitumor product Taxol. A new enzymatic method has been developed for the total synthesis of crispine A enantiomers with antitumor activity.

As amino acids are among the main products in the above-mentioned enzymatic methods, a new gas-chromatographic method has been acquired for the enantioseparation of acyclic and carbocyclic cis- and trans- β -amino acids via a rapid double derivatization technique (esterification followed by N-acylation).

Applicability

Through the utilization of enzymes, efficient enantioselective procedures in organic media have been developed and applied for the preparation of enantiopure, biologically active β - and γ -lactams and β - and γ -amino acids (Scheme 15). Two of our recently elaborated enzymatic methods for the synthesis of β - and γ -amino acids have been patented. Acros Organics and BioBlocks Inc. serve as the sales companies of more than 20 enantiopure products that we have prepared by enzymatic methods.

Keywords: Abacavir, amino acid, Anatoxin-a, Carbovir, Cispentacin, Crispine A, double derivatization, enzyme, lactam, Sitagliptin, Taxol

Összefoglalás

Az enantiomertiszta természetes anyagok szintézisére irányuló törekvéseknek, valamint a korszerű gyógyszerkutató és gyógyszerbevezetési elveknek (enantiomertiszta farmakonok előállítása) megfelelően, hatékony, új és egyszerű direkt és indirekt enzimes módszereket fejlesztettünk és méretnöveltünk enantiomertiszta értékes β - és γ -laktámok és β - és γ -aminosavak szintézisére. Így pl. formális totál-szintézist adtunk meg a nikotinos acetilkolin receptorra sztereospecifikus agonista enantiomertiszta Anatoxin-a szintézisére. Előállítottuk a gombaellenes hatással bíró cispentacint [(1R,2S)-2-amino-1-ciklopentánkarbonsav] és 8 új analóg és homológ származékát. Megvalósítottuk az antivirális Abacavir és Carbovir értékes intermediérének, az (1S,4R)-4-aminociklopent-2-én-1-karbonsavnak a szintézisét. Kidolgoztuk az első enzimes utat a 2-es típusú diabetes kezelésére alkalmazott Sitagliptin intermedier (R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluor-fenil)bután-sav szintézisére. Több direkt enzimes stratégiát is kidolgoztunk és alkalmaztunk sikeresen a daganatos megbetegedések kezelésére használt Taxol oldallánc kulcs-intermediérének, a (2R,3S)-3-fenilizoserinnak az előállítására. Új, enzimes eljárást dolgoztunk ki a daganatellenes Kriszpin A enantiomerek totál szintézisére.

Mivel a fentiekben említett enzimes munkánk egyik terméke legtöbb esetben aminosav volt, az enzimes reakciók követésére és aminosavak enantiomerfeleslegének a meghatározására új, általunk dupla derivatizálás elnevezés alatt bevezetett gázkromatográfiás módszert (észterezés és ezt követő N-acilezés) dolgoztunk ki karbociklusos cisz és transz, valamint aciklusos β -aminosavak enantioszeparálására.

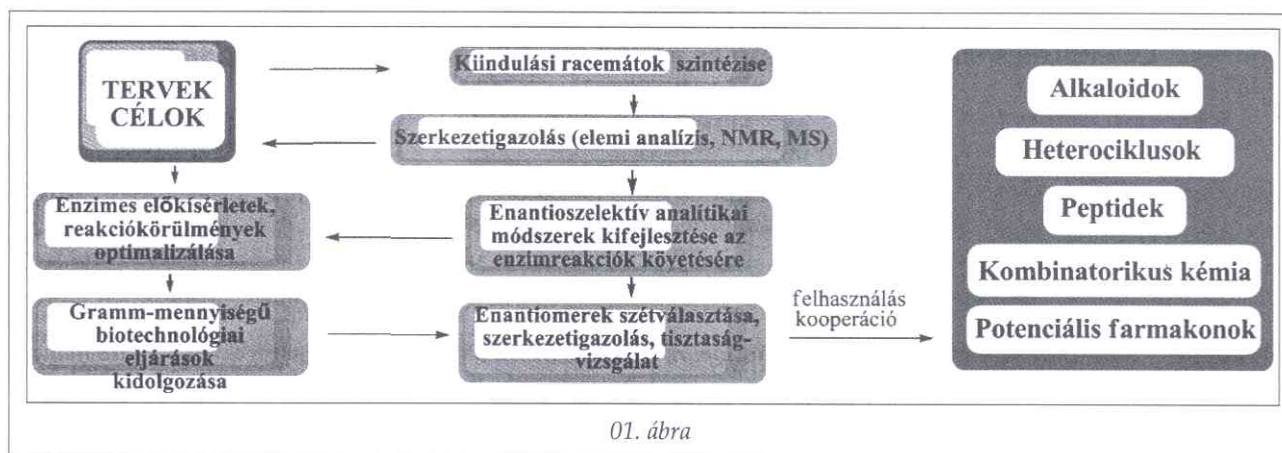
Alkalmazási lehetőségek: Két, a β - és γ -aminosavak szintézisére kidolgozott enzimes eljárásunk iparjogvédelme megtörtént⁹. Az általunk kidolgozott enzimes módszerekkel készült enantiomerek közül több mint 20 enantiomerünket az Acros Organics és BioBlocks Inc. vállalatok forgalmazzák. Bizonyítottuk, hogy a szerves közegű enzim-katalizált rezolválások kiválóan alkalmazhatók enantiomertiszta, biológiailag aktív β - és γ -laktámok, valamint β - és γ -aminosavak előállítására (15. ábra).

Kulcsszavak: Abacavir, aminosav, Anatoxin-a, Carbovir, Cispentacin, dupla derivatizálás, enzim, Kriszpin A, laktám, Sitagliptin, Taxol.

A jövő biokatalizátoraiként is emlegetett enzimek ipari felhasználása egyre hangsúlyozottabb, 10-12 nagyságrenddel gyorsíthatják a reakciókat, enyhe

körülmények között működnek, és ami a legfontosabb, hogy szelektíven (kemo-, régio- és enantio-szelektíven) irányíthatják a reakciókat. Enantiodiszkriminatív tulajdonságuknak köszönhetően az enantiomer laktám és aminosav előállítására fókuszáló munkáinkhoz, az utóbbi időben egyre

*MTA doktori értekezés védésén (2011. június 27.) elhangzott előadás alapján készült közlemény



dinamikusabban fejlődő környezetbarát enzim-katalizált kinetikus rezolválás mellett döntöttünk. A reakciókat nem a szokásos vizes, hanem a számos előnnyel bíró organikus fázisban végeztük.

Új tudományos eredmények

Az egyes munkákon belül jól elkülöníthető lépések követik egymást: a racém szubsztát szintézise; az enzim reakció követésére alkalmas analitikai módszer kidolgozása; az optimalizálási, félmikrométerű enzim reakciók kivitelezése (enzim, acil donor vagy nukleofil, oldószer, adalék, hőmérséklet stb. enantioszelektivitásra és reakció sebességére gyakorolt hatásának vizsgálata); a preparatív-mennyiségű enzim rezolválás; a termékek izolálása és jellemzése (01. ábra). Az enzim előkísérletek során hangsúlyt kívántunk fektetni arra is, hogy természetbarát körülményeket találjunk, pl. a környezetre kevésbé káros „zöld” oldószerek használatával.

A reakciók előrehaladását a konverzió számításával [(3), ahol az A_1 - A_4 az alapvonalra elválasztott enantiomercsúcsok területintegráljait jelentik és $A_2 > A_1$, valamint $A_3 > A_4$] adtuk meg (02. ábra). A termékek enantiomerfeleslegét (ee) az (1) és (2) képletek segítségével számítottuk, míg az enzim reakciókra jellemző enantioszelektivitási, dimenzió nélküli érték (E ; azt mutatja meg, hogy egyik enantiomer hányszor gyorsabban alakul terméké, mint az antipódja) számítása a (4) képlet sze-

rint történt. A meghatározásokhoz királis oszloppal (Chromopack Chirasil-Dex CB, Chir-L-Val, Supelco Gamma-Dex™ 225) felszerelt gázkromatográfot (GC), ill. királis oszloppal (Chiralpak IA, Chirobiotic TAG, APEX Octadecyl 5 μ) felszerelt folyadékkromatográfot (HPLC) használtunk.

Az enantiomertiszta termékeket szerkezetigazolással (^1H -, ^{13}C -NMR, Bruker DRX 400, 500), olvadáspont-méréssel (Kofler készülék), az ee [Varian GC (3900), ill. Jasco HPLC (quaternary gradient pump PU-2089plus, multiwavelength detector MD-2010plus)] és az optikai forgatóképesség, α (Perkin Elmer 341) értékek megadásával jellemeztük.

Jelen közleményben az értekezéssel megegyező vegyületszámozást alkalmaztam.

Indirekt enzimikus módszerek

Az Anatoxin-a enantiomerek formális totál-szintézise

Az enantiomertiszta Anatoxin-a (a nikotinos acetilkolin receptorra sztereospecifikus agonista, igen erős idegméreg) előállítására formális totál szintézist dolgoztunk ki a 9-(hidroximetil)-9-azabicyclo[6.2.0]dek-4-én-10-on [(±)-13] lipáz-katalizált aszimmetrikus O-acilezésén keresztül (1. ábra) [1a]. A reakció sebességének és enantioszelektivitásának optimalizálásánál korábbi tapasztalatainkat [1b] is figyelembe vettük, a legjobb enantioszelektivitást ($E = 94$) akkor értük el, amikor a primer OH acilezését 2 ekvivalens vinil-acetáttal, Celitre immobilizált PS lipáz jelenlétében, diizopropil-éterben, -15°C -on végeztük. Az enantiomerdús alkohol [(1S,2R)-13] és észter [(1R,2S)-14] termékeket ($ee \geq 92\%$) oszlopkromatográfiás szétválasztásuk után, ammónium-hidroxid-

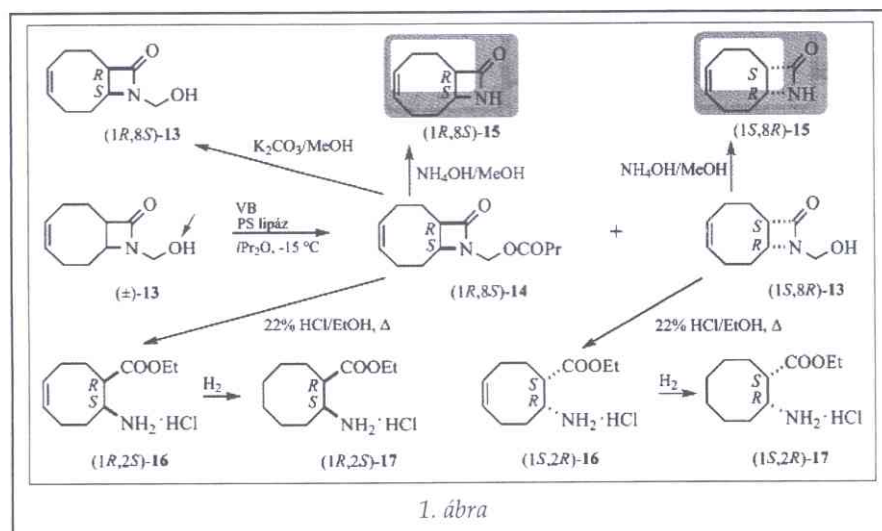
$$(1) ee_s = \frac{A_3 - A_4}{A_3 + A_4}$$

$$(2) ee_p = \frac{A_2 - A_1}{A_1 + A_2}$$

$$(3) konv. = \frac{ee_s}{ee_s + ee_p}$$

$$(4) E = \frac{\ln \frac{(1-ee_s)}{(1+ee_s/ee_p)}}{\ln \frac{(1+ee_s)}{(1+ee_s/ee_p)}}$$

02. ábra



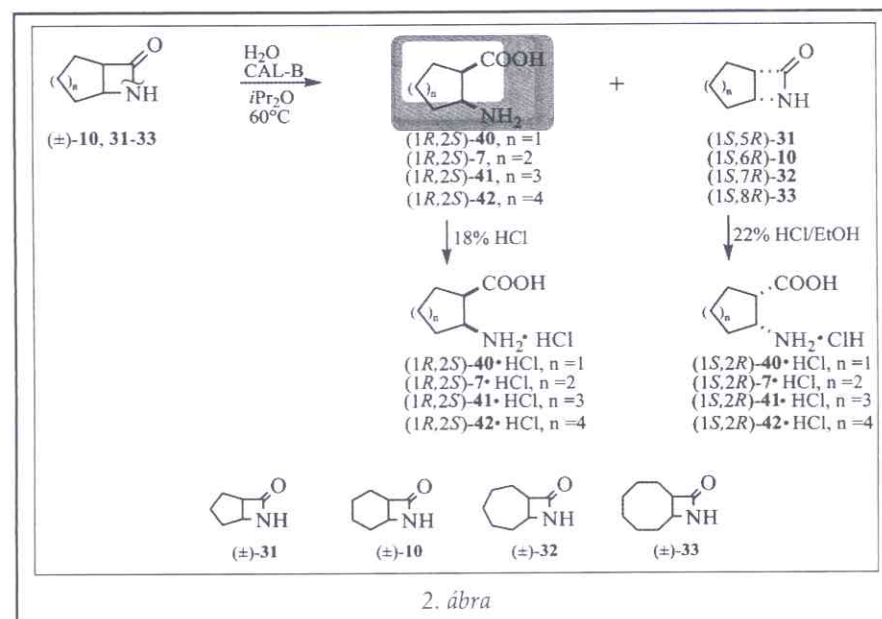
talizálta. Kiváló enantioszelektivitás ($E_{\text{acilezés}}$ és $E_{\text{hidrolízis}} > 200$) jellemezte a 4-fenil-2-azetidinon enzimés rezolválásait, míg a 4-(*p*-tolil)-2-azetidinon esetében végzett enzimés rezolválások esetében alacsonyabb értékeket tapasztaltunk ($E_{\text{acilezés}} = 57$, $E_{\text{hidrolízis}} = 89$).

Direkt enzimés módszerek

A Cispentacin és enantiomer-tiszta származékainak előállítása β -laktámok enantioszelektív gyűrűnyitásán keresztül

Nem aktivált karbociklusos és aciklusos β -laktámok lipáz-katalizált enantioszelektív metanolízisét [2a] követően, igen hatékony és egyszerű direkt enzimés módszert dolgoztunk ki elsőként karbociklusos *cis*z β -aminosavak szintézisére a megfelelő, nem védett β -laktámok [(±)-10, 31–33] szerves közegű enantioszelektív gyűrűnyitásán keresztül (2. ábra) [2b].

A kiváló enantioszelektivitással ($E > 200$) zajló reakciókból [*Candida antarctica* B lipáz (Lipolase) katalízissal, 1 ekvivalens hozzáadott vízzel,

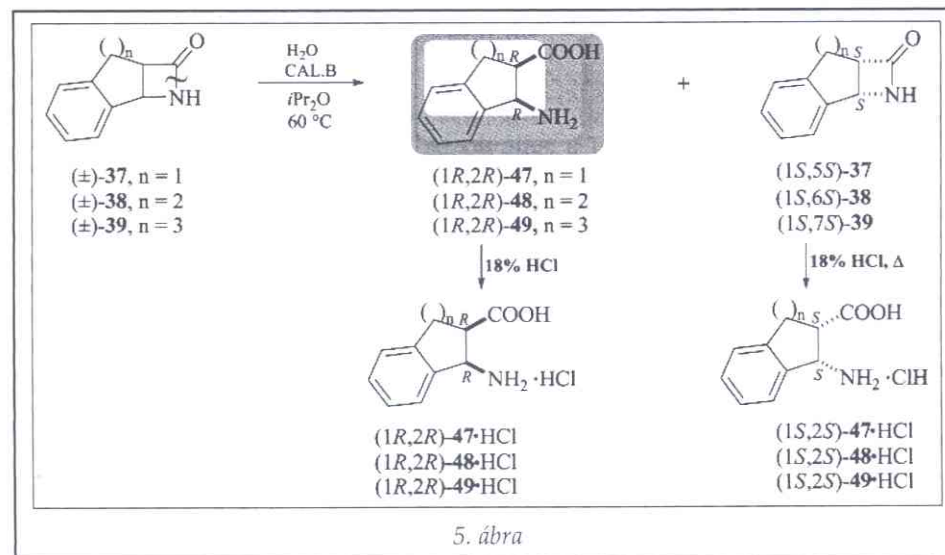
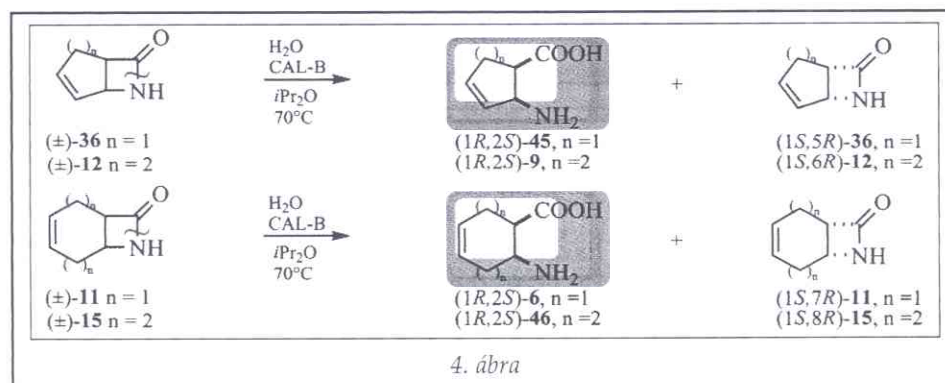
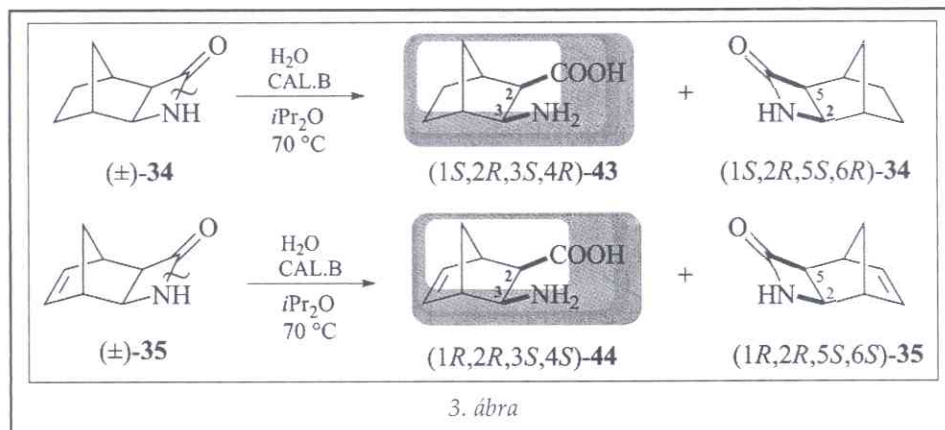


dos metanolban történő kevertetéssel alakítottuk a kívánt (1*R*,2*S*)-15 és (1*S*,2*R*)-15, Anatoxin-*a* intermedierekké ($ee \geq 93\%$). Ugyanakkor, az (1*S*,2*R*)-13 és (1*R*,2*S*)-14 gyűrűnyitásán, majd ezt követő hidrogénezésén keresztül 8-tagú gyűrűs telítetlen és telített β -aminosav származékokat [(1*R*,2*S*)-16, 17 és (1*S*,2*R*)-16, 17] állítottunk elő.

A későbbiekben, hatékony indirekt enzimés módszert dolgoztunk ki aciklusos β -laktámok, így a 4-fenil- és 4-(*p*-tolil)-2-azetidinonok enzimés rezolválására mind a *N*-(hidroximetilezett)-4-ariszubsztituált β -laktámok enantioszelektív acilezésén, mind pedig az *N*-(acetoximetilezett)-származékok enantioszelektív hidrolízisén keresztül [1c]. Azt találtuk, hogy a Celitre immobilizált PS lipáz mind az acilezést (vinil-butiráttal, toluolban, 25 °C-on), mind pedig a deacilezést (EtOH-al, diizopropiléterben, 40 °C-on) *R* szelektivitással ka-

diizopropiléterben, 60 °C-on] nagy enantiomerfelesleggel ($ee \geq 93\%$) és jó termeléssel ($\geq 72\%$) kaptuk a termékeket. A módszer egyik nagy előnye, hogy a termék aminosav [(1*R*,2*S*)-7, 40–42] és el nem reagált laktám [(1*S*,6*R*)-10, (1*S*,5*R*)-31, (1*S*,7*R*)-32 és (1*S*,8*R*)-33] enantiomerek szétválasztását egyszerű módon, szerves-vizes extrakcióval végeztük. Az eljárást méretnöveltük és grammos tételekben állítottuk elő a gombaellenes aktivitású ciszpentacint {(1*R*,2*S*)-2-amino-1-ciklopentánkarbonsav hidroklorid [(1*R*,2*S*)-40·HCl; $ee \geq 99\%$,] és másik 3 homológját [(1*R*,2*S*)-7·HCl, 41·HCl és 42·HCl; $ee \geq 96\%$].

Direkt enzimés eljárást dolgoztunk ki az 1,4-etil- és 1,4-etilén-áthidalt ciszpentacin, új ciszpentacin származékok előállítására, a megfelelő racém *exo*-3-aza-triciklo[4.2.1.0^{2,5}]nonán-4-on és *exo*-3-aza-triciklo[4.2.1.0^{2,5}]non-7-én-4-on *Candida antarctica* B



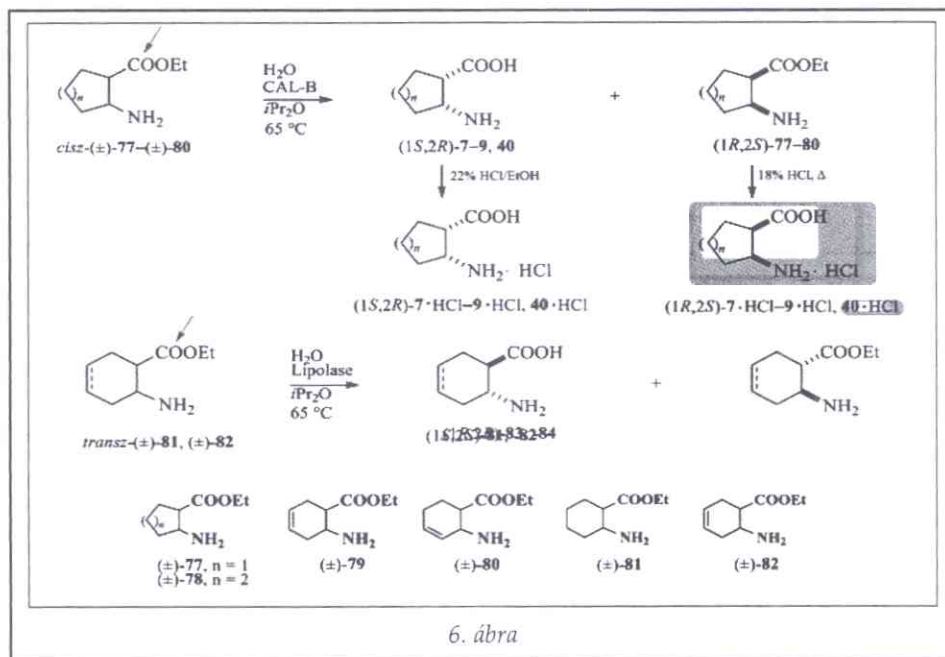
lipáz (Lipolase)-katalizált enantioszelektív ($E > 200$) gyűrűnyitásban keresztül (3. ábra) [2c]. Az 1 ekvivalens hozzáadott vízzel, diizopropiléterben, 70°C -on végzett reakciók, nagy enantiomerfelesleggel ($\geq 98\%$) és jó termeléssel eredményezett termékeket ($\geq 80\%$) szerves-vizes extrakcióval választottuk szét.

További funkcionálizálás lehetőségét kínálva, telítetlen karbociklusos *cisz*-2-amino-1-cikloalkán-karbonsavakat [(1R,2S)-6, 9, 45, 46] szintetizáltunk jó termeléssel ($\geq 90\%$) és nagy enantiomerfeles-

leggel ($ee \geq 95\%$), a megfelelő telítetlen racém β -laktámok *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-katalizált enantioszelektív ($E > 200$) gyűrűnyitásban keresztül (4. ábra). A reakciókat 1 ekvivalens hozzáadott vízzel, diizopropiléterben, 70°C -on végeztük [2d].

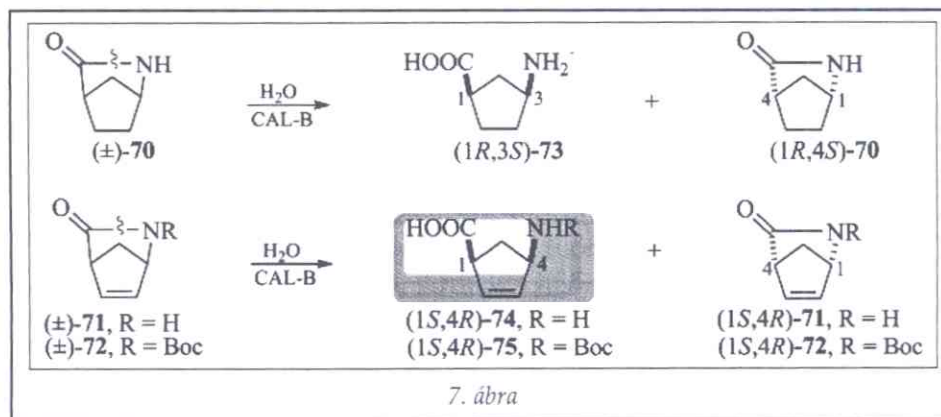
Kiváló enantiomerfelesleggel ($ee \geq 96\%$) állítottuk elő a benzocisz-pentacint [(1R,2R)-47·HCl és új, hat-[(1R,2R)-48·HCl], ill. héttagú [(1R,2R)-49·HCl]] homológjait. A racém 3,4-benzo-6-aza-biciklo[3.2.0]heptán-7-on [(±)-37], a 4,5-benzo-7-aza-biciklo[4.2.0]oktán-8-on [(±)-38] és az 5,6-benzo-8-aza-biciklo[5.2.0]nonán-9-on [(±)-39] enantioszelektív gyűrűnyitását ($E > 200$) *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-katalizissal, 1 ekvivalens hozzáadott vízzel, $i\text{Pr}_2$ -ben, 60°C -on végeztük (5. ábra) [2e]. Fontos megjegyezni, hogy a *Candida antarctica* B lipáz enantiopreferenciája a korábbiakban bemutatott gyűrűnyitásokhoz képest nem, csupán a királis centrumhoz kötődő szubsztituensek prioritási sorrendje változott.

Környezetkímélő, oldószermentes, *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-kalizált eljárást optimalizáltunk mono-, bi- és triciklusos, valamint 4-aril-szubsztituált β -laktámok enantioszelektív gyűrűnyitására. A szerves oldószerben végzett reakciókkal összehasonlítva, viszonylag lassúbb reakciókat tapasztaltunk, az enantioszelektivitási értékek azonban változatlanul kiválóak ($E > 200$) voltak. A reakciók sebességét az enzim mennyiségének növelésével gyorsítottuk, az enzim újrafelhasználásával pedig a módszert gazdaságossá tettük. Az új, „zöld”



Az Abacavir és Carbovir intermediérének enantiomertiszta formában való előállítása γ -laktámok enantioszelektív gyűrnýtésén keresztül [4, 9b]

Kidolgoztunk egy új enzim-es eljárást mind N-védett [(±)-72], mind pedig szabad NH funkciót [(±)-70, 71] tartalmazó γ -laktámok enantioszelektív hidrolízisére (7. ábra). Kiváló enantioszelektivitást ($E > 200$) értünk el *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase) enzimet használva katalizátorként, 0,5 ekvivalens vizet nukleofilként és amikor a reakciókat diizopropiléterben, 30 °C-on vagy 65 °C-on végeztük. A nagy enantiomerfelesleggel ($ee \geq 96\%$), jó termelés mellett ($> 84\%$) kapott el nem reagált γ -laktámot és gyűrnýtelt γ -aminosavat N-védett termékek esetén oszlopkromatográfián, szabad NH funkciót tartalmazó termékek esetén



módszert sikeresen alkalmaztuk a ciszpentacin és különböző származékainak enantiomertiszta formában történő előállítására [2f].

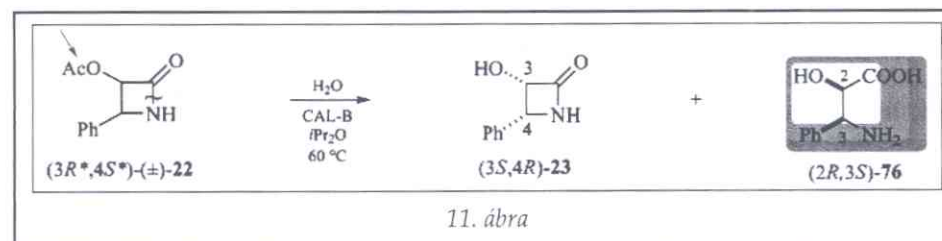
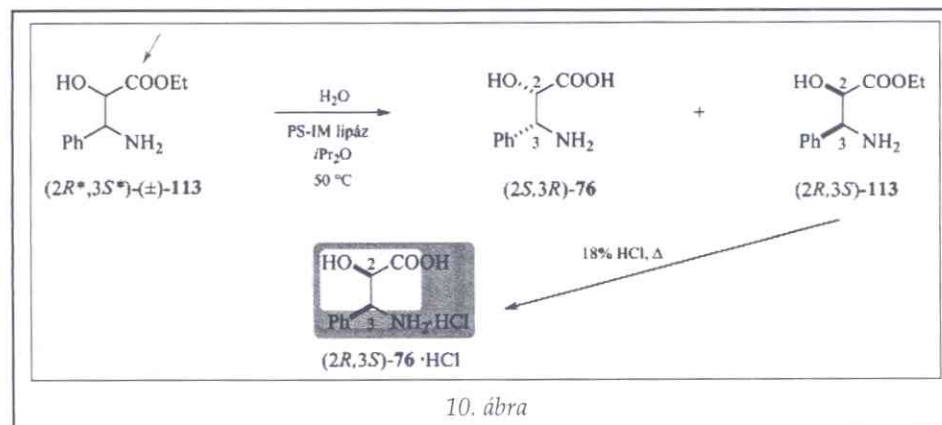
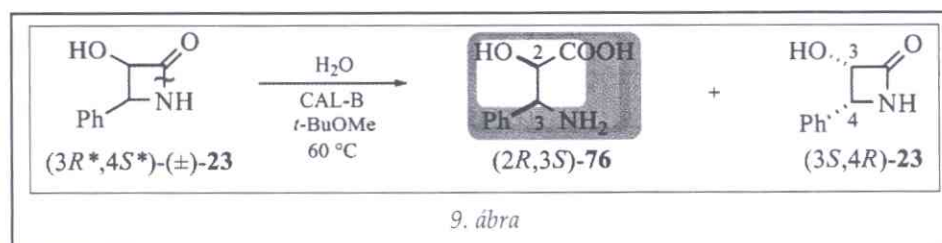
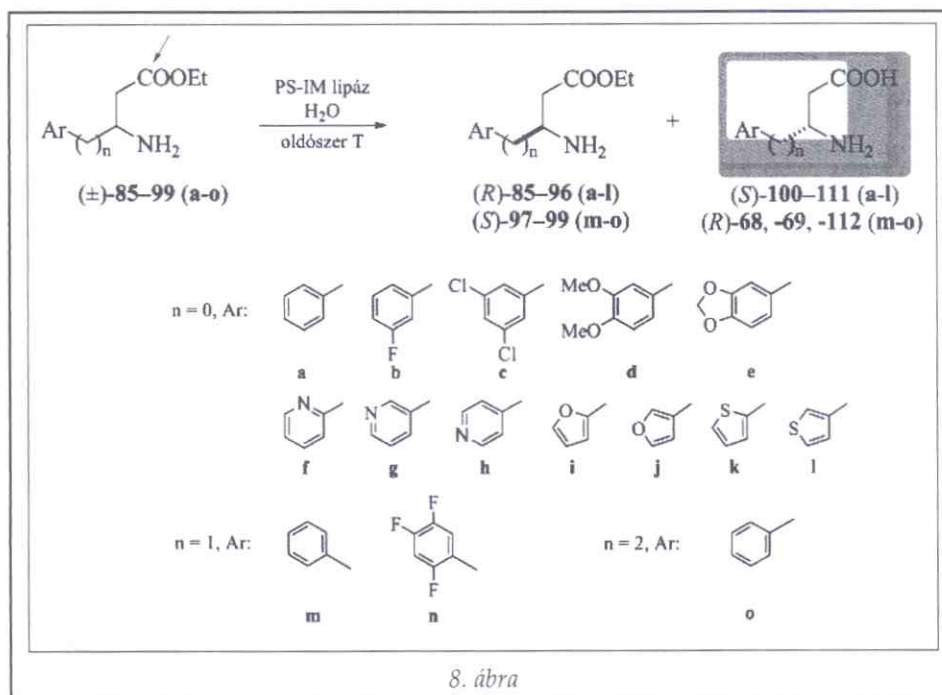
A Cispentacin és enantiomertiszta származékainak előállítása β -aminoészterek enantioszelektív hidrolíziséen keresztül [3, 9a]

Új enzim-es eljárást dolgoztunk ki karbociklusos cisz [(±)-77–80] és transz [(±)-81 és (±)-82] β -aminoészterek enantioszelektív hidrolízisére, szerves közegben (6. ábra). Nagy enantioszelektivitást (E általában > 100) értünk el úgy, hogy a hidrolízist *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase) katalízissel, 0,5 ekvivalens hozzáadott vízzel, diizopropiléterben, 65 °C-on végeztük. Az eljárással jó termeléssel állítottunk elő mind cisz ($\geq 84\%$), mind pedig transz ($\geq 88\%$) enantiomertiszta ($ee \geq 96\%$) β -aminosavakat [köztük a ciszpentacint [(1R,2S)-40·HCl, $n=1$]].

pedig szűréssel választottuk szét. A módszer segítségével preparatív mennyiségben (> 5 g) állítottuk elő az antivirális Abacavir és Carbovir szintézisének kulcs-intermediérjét, az (1S,4R)-4-amino-ciklopent-2-én-1-karbonsavat [(1S,4R)-74].

A Sitagliptin intermediérének enantiomertiszta formában való előállítása β -aminoészterek enantioszelektív hidrolíziséen keresztül

Direkt enzim-es eljárást dolgoztunk ki β -aril-szubstituíált [(±)-85–(±)-99 (a–e)] [5a], β -heteroaril-szubstituíált [(±)-85–(±)-99 (f–l)] [5b] és β -arilalkil-szubstituíált [(±)-85–(±)-99 (m–o)] [5c] β -aminoészterek enantioszelektív hidrolízisére (8. ábra). Kiváló enantioszelektivitást ($E > 100$) kaptunk, amikor a reakciókat *Burkholderia cepacia* lipáz [PS (Celitre immobilizált), ill. PS-IM] katalízissel, 0,5 ekvivalens hozzáadott vízzel, szerves közegben (i Pr₂O vagy t -BuOMe), viszonylag alacsony hőmér-



segítségével, elsőként állítottuk elő enzimikus úton, nagy enantiomerfelesleggel ($ee = 97\%$) és jó termékkel (86%) a 2-es típusú diabetes kezelésére alkalmazott Sitagliptin intermedierént $[(R)\text{-112 (n)}]$ [5c].

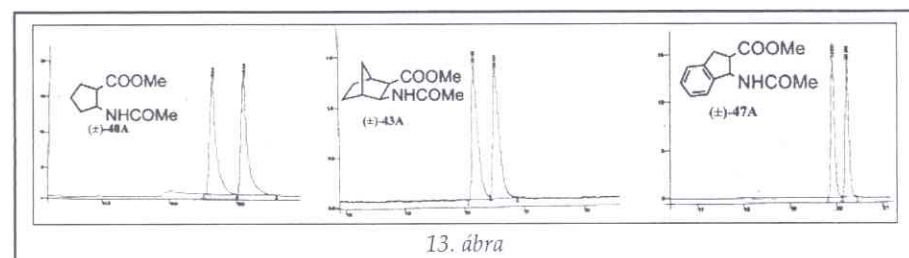
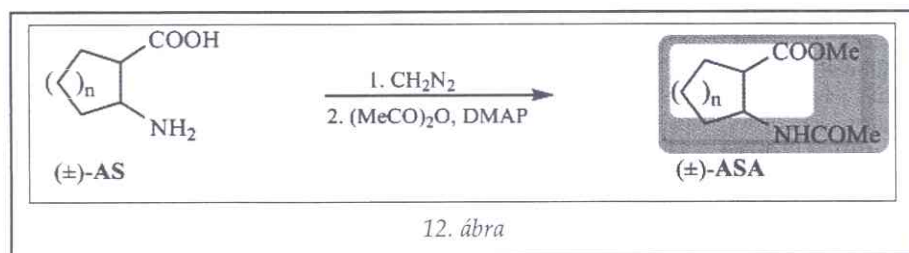
A Taxol oldallánc kulcs-intermedierjének enantiomertiszta formában történő előállítása

Hatékony direkt enzimikus stratégiát dolgoztunk ki a racém *cisz*-3-hidroxi-4-fenil-2-azetidionon $[(3R^*,4S^*)\text{-23}]$ enantioszelektív ($E > 200$) gyűrűnyitására [6a]. A célmolekula $(2R,3S)$ -3-fenilizoszerint $[(2R,3S)\text{-76}]$, a daganatellenes Taxol oldallánc kulcs-intermedierjét kiváló enantiomerfelesleggel ($ee > 98\%$) és jó termékkel (96%) kaptuk, amikor a $(3R^*,4S^*)\text{-23}$ hidrolízisét 0,5 ekvivalens hozzáadott vízzel, *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase) katalízissel, *t*-BuOMe-ben, $60\text{ }^\circ\text{C}$ -on végeztük (9. ábra). A termékeket szerves-vizes extrakcióval választottuk szét.

Új enzimikus stratégiát dolgoztunk ki a $(2R,3S)$ -3-amino-3-fenil-2-hidroxi-propionsav $[(2R,3S)\text{-76} \cdot \text{HCl}]$ előállítására a racém etil-(3-amino-3-fenil-2-hidroxi-propionát) $[(2R^*,3S^*)\text{-(}\pm\text{)-113}]$ enantioszelektív hidrolízisen keresztül [6b]. Kiváló enantioszelektivitást ($E > 200$) értünk el PS-IM

sékleten (25 vagy $45\text{ }^\circ\text{C}$) végeztük. A termék aminosav és aminosav enantiomereket szerves-vizes extrakcióval választottuk szét. A módszer

lipázzal, 0,5 ekvivalens hozzáadott vízzel, diizopropiléterben, $50\text{ }^\circ\text{C}$ -on és nyertük nagy enantiomerfelesleggel ($ee \geq 98\%$), jó termék mel-



lett ($\geq 90\%$) a termékeket [(2*S*,3*R*)-**76** és (2*R*,3*S*)-**113**] (10. ábra), melyek szétválasztását szerves-vizes extrakcióval végeztük.

Új típusú enzimikus szekvenciális reakciót dolgoztunk ki és alkalmaztunk sikeresen a Taxol kulcs-intermedierjének szintézisére. A módszer különlegessége, hogy egy racém szubsztrát, ugyanazon enzim-katalizált két, egymást követő reakció eredményeként két különböző termék alakul. Esetünkben, a (3*R**,4*S**)-(±)-**22** *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-katalizált hidrolízise során jó termeléssel ($> 86\%$) kaptuk a két különböző, enantiomertiszta ($ee \geq 98\%$) terméket [(3*S*,4*R*)-**23** és (2*R*,3*S*)-**76**] (11. ábra) [6a]. Fontos kiemelni, hogy a jelen szubsztrát két teljesen különböző egysége vett részt a Lipolase katalízissal, 0,5 ekvivalens hozzáadott vízzel, diizopropiléterben, 60 °C-on végzett átalakításban: a C-3 észter hidrolízise és az amid kötés hidrolitikus hasítása.

Dupla derivatizálás [7]

Az előállított, és részben bemutatott aminosav enantiomereink enantiomerfeleslegének meghatározása céljából, általunk dupla derivatizálás elnevezéssel ismertetett analitikai módszert (észterezés és ezt követő N-acilezés) dolgoztunk ki (12. ábra) különböző *cisz* és *transz* karbociklusos és aciklusos β -aminosavak gázkromatográfiás elválasztására. A (diazometánnal történő észterezés és ezt követő savanhidriddel, 4-dimetilaminopiridin és piridin jelenlétében végzett N-acilezés pár másodpercet vett igénybe, majd a mintát közvetlenül injektáltuk a GC királis oszlopára. Jóllehet, a módszert nem kvantitatív meghatározás céljával fejlesztettük, jó validálási paramétereket mutatott, és ami a legfontosabb, hogy a származékképzés so-

rán nyomokban sem volt kimutatható racemizáció.

Néhány példa látható az ily módon derivatizált aminosavak (*cisz*pentacin és származékai) gázkromatográfiás enantioszeparálására (13. ábra).

Az enantiomertiszta Kriszpin A totálszintézise [8]

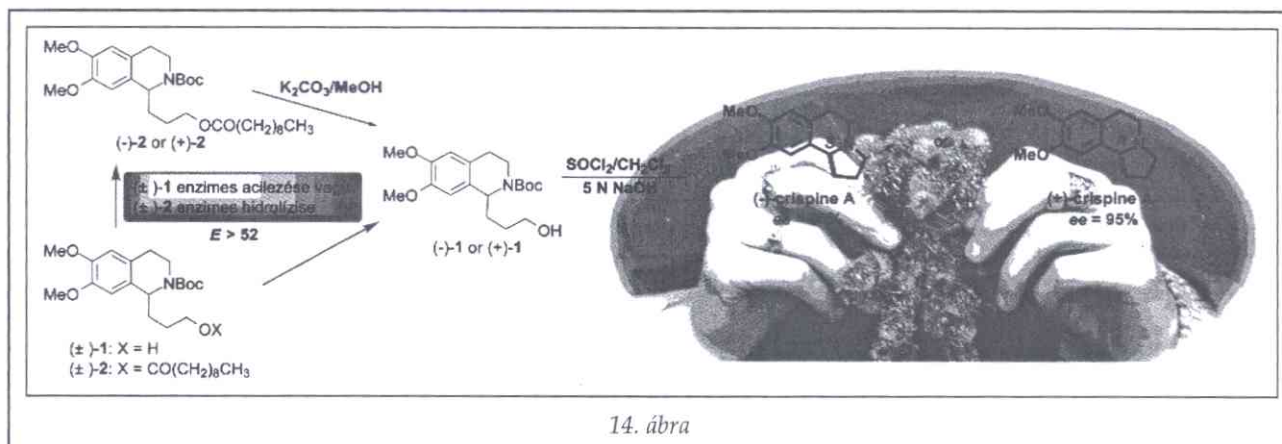
Totálszintézist dolgoztunk ki a *Cardus crispus* növényből izolált alkaloid, a daga-

natellenes Kriszpin A enantiomerek előállítására enzim-katalizált kinetikus lépésen keresztül (14. ábra). Kiváló enantiomerfelesleggel kaptuk a kívánt termékeket, jóllehet a kulcsfontosságú enzim lépés esetében (aszimmetrikus acilezés vagy enantioszelektív hidrolízis), a reakció centrum 4-atomnyi távolságra helyezkedett el a királis centrumtól. Mind az acilezési, mind pedig a hidrolitikus reakciókat *Pseudomonas cepacia* PS lipáz katalízissal, szerves oldószerben végeztük. Az alkohol és észter enantiomereket ($ee \geq 96\%$) oszlopkromatográfiásan választottuk szét, majd az alkohol enantiomereket a megfelelő daganatellenes hatással bíró Kriszpin enantiomerekké alakítottuk ($ee \geq 95\%$).

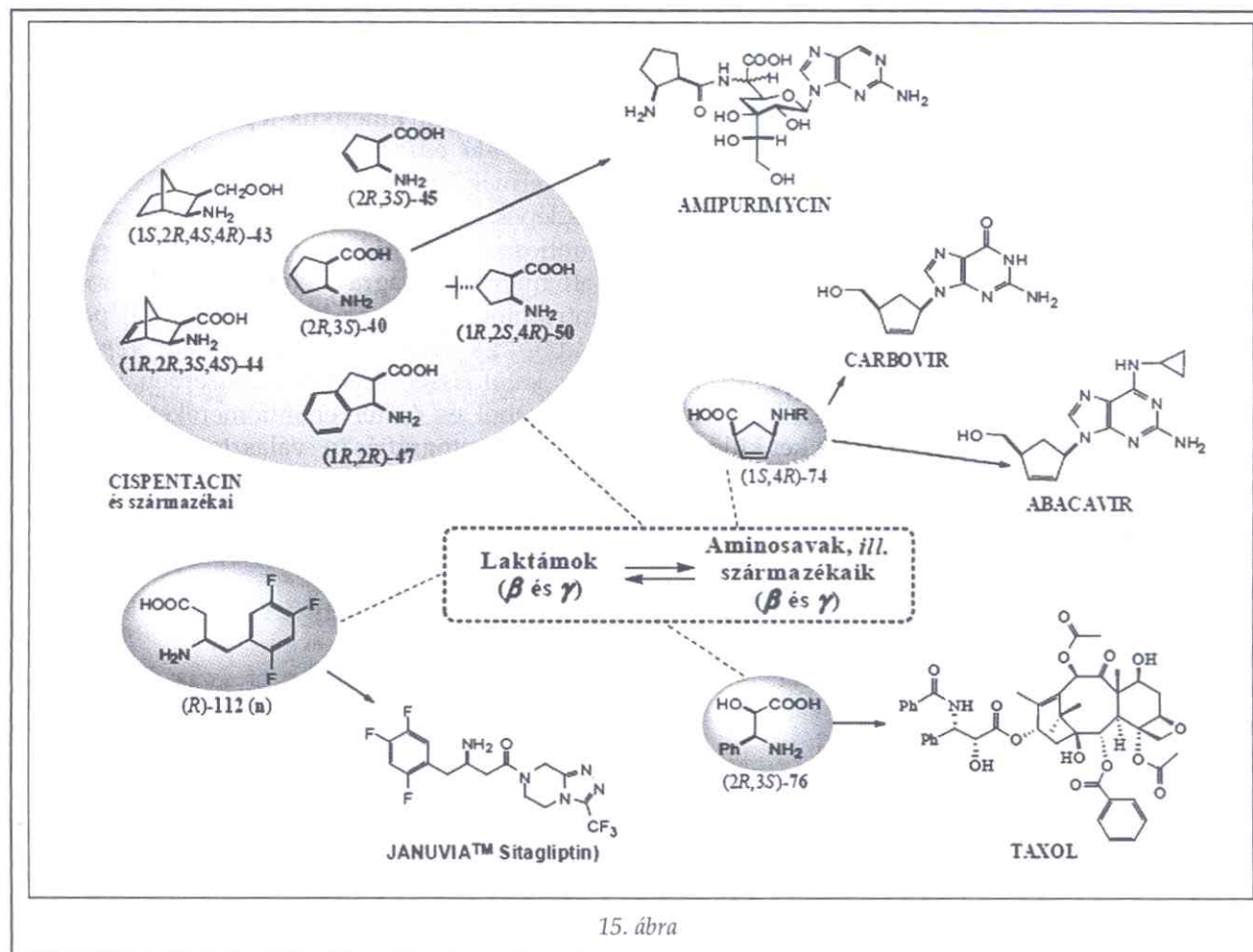
Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Bernáth Gábor professzor úrnak, hogy 1993-ban felvett az általa vezetett Intézetbe. Köszönetet mondok Tanító Mesteremnek, Fülöp Ferenc professzor úrnak tanításaiért, építő kritikájáért. Köszönöm, hogy szigorúan irányított, s hogy néha azt is mondta „nem is olyan rossz”. Köszönöm Édesapámnak, hogy a távolság ellenére is mindvégig velem volt, hogy megoszthattam mind a jó, mind a kevésbé jó híreket, hogy velem örült vagy éppen bízott, ha kellett. Köszönöm Liisa T. Kanerva, Kurt Faber és Romas J. Kazlauskas professzoroknak, hogy külföldi tartózkodásaim alatt munkámat segítették.

Köszönet illeti a SZTE Gyógyszerkémiai Intézetének enzimikus csoportjában végzett PhD hallgatókat, Dr. Kámán Juditot, Dr. Solymár Magdolnát, Dr. Fitz Mónikát, Dr. Tasnádi Gábort és a jelenleg PhD doktori értekezését író Paál Tihamért, valamint Schönstein László jelenlegi doktoranduszt, akik



14. ábra



15. ábra

megbízhatóan és lelkesen vettek részt a munkákban. Sok kiindulási racemát szintéziséért mondok köszönetet Árva Judit vegyész üzemmérnöknek. Mosolyukért köszönetet mondok minden kedves kollégámnak és barátomnak.

Köszönöm a Magyar Tudományos Akadémia (Békésy György Posztdoktori Ösztöndíj), Bolyai János Kutatási Ösztöndíj), a Magyar Ösztöndíj Bizottság (Magyar Állami Eötvös Ösztöndíj), az Ok-

tatási Minisztérium (FKFP 0115/2001) és az OTKA (46440, 71938) anyagi támogatását.

IRODALOM

- (a) Forró, E., Árvai, J., Fülöp, F.: Tetrahedron: Asymmetry 12, 643-649 (2001); (b) Kámán, J., Forró, E., Fülöp, F.: Tetrahedron: Asymmetry 11, 1593-1600 (2000); (c) Forró, E., Fülöp, F.: Tetrahedron: Asymmetry 12, 2351-2358 (2001).

2. (a) Park, S., Forró, E., Grewal, H., Fülöp, F., Kazlauskas, R.J.: *Adv. Synth. Catal.* 345, 986-995 (2003); (b) Forró, E., Fülöp, F.: *Org. Lett.* 5, 1209-1212 (2003); (c) Forró, E., Fülöp, F.: *Tetrahedron: Asymmetry* 15, 573-575 (2004); (d) Forró, E., Fülöp, F.: *Tetrahedron: Asymmetry* 15, 2875-2880 (2004); (e) Forró, E., Fülöp, F.: *Chem. Eur. J.* 12, 2587-2592 (2006); (f) Forró, E., Fülöp, F.: *Tetrahedron: Asymmetry* 19, 1005-1009 (2008).
3. Forró, E., Fülöp, F.: *Chem. Eur. J.* 13, 6397-6401 (2007).
4. Forró, E., Fülöp, F.: *Eur. J. Org. Chem.* 31, 5263-5268 (2008).
5. (a) Tasnádi, G., Forró, E., Fülöp, F.: *Tetrahedron: Asymmetry* 19, 2072-2077 (2008); (b) Tasnádi, G., Forró, E., Fülöp, F.: *Tetrahedron: Asymmetry* 20, 1771-1777 (2009); (c) Tasnádi, G., Forró, E., Fülöp, F.: *Org. Biomol. Chem.* 8, 886-895 (2010).
6. (a) Forró, E., Fülöp, F.: *Eur. J. Org. Chem.* 16, 3074-3079 (2010); (b) Forró, E., Fülöp, F.: *Tetrahedron: Asymmetry* 21, 637-639 (2010).
7. Forró, E.: *J. Chromatogr. A* 1216, 1025-1029 (2009).
8. Forró, E., Schönstein, L., Fülöp, F.: *Tetrahedron: Asymmetry* 22, 1255-1260 (2011).
9. (a) Forró, E., Fülöp, F.: PCT WO/2007/091110 A1 (16.08.2007); (b) Forró, E., Fülöp, F.: PCT/WO/2009007759 A1 (15.01.2009).

Érkezett: 2011. szeptember 26.
